

2013年度 農学研究科 博士学位請求論文（要旨）

Studies on the Physiological Responses of Paddy Rice to Atmospheric Concentrations of Ozone and Carbon Dioxide

（大気中オゾンおよび二酸化炭素の濃度に対する水稻の生理反応に関する研究）

学位請求者 農学専攻
小早川 紘樹

内 容 の 要 旨

産業革命以降、人間活動の活性化に伴い、温室効果ガスや大気汚染物質の問題が顕在化しており、作物学においても主要作物である水稻の生産に及ぼす影響を明らかにし、対応策を立てることは重要課題である。本論文では、大気汚染物質である光化学オキシダントの主成分であるオゾン (O_3) と温室効果ガスである二酸化炭素 (CO_2) が水稻の生理機能に及ぼす影響を、光合成を中心に解明し、その作用メカニズムを明らかにすると共に、これら大気変動への適応策を考察した。以下に、各章の概要を示す。

第1章では、本研究の目的および必要性を明確にするために、研究背景についてまとめた。対流圏の O_3 は人間や植物に有害で、植物が O_3 に曝露されると、光合成能力低下、可視被害発生、生育・収量低下などの影響が生ずる。一方で、大気中の CO_2 濃度は産業革命以降、増加の一途を辿っている。 CO_2 は光合成の基質となるため、一般に光合成の増加を通じて、作物の生育を促進する。主要な作物である水稻においては、 O_3 曝露により、純光合成速度 (P_N) 低下、可視被害発生、生育抑制、収量低下など、いくつか報告されている。また、高 CO_2 環境下では、気孔が閉鎖するので、気孔を介した O_3 の取り込みが抑制され、 O_3 被害が軽減することも示されている。しかしながら、これらの詳細なメカニズムについては未だに不明である。そこで、本研究では、水稻の光合成への O_3 および CO_2 の影響をより詳細に検討した。さらに、シロイヌナズナなどのモデル植物で O_3 被害を決定する上

で重要なことが研究されている抗酸化物質や植物ホルモンとの関係も対象とした。

第2章では、光合成の光化学系（電子伝達反応）に及ぼす O_3 の影響を評価する手法として、本研究で導入したクロロフィル蛍光の測定方法について考察した。クロロフィル蛍光測定により得られる指標で最も頻繁に用いられる光化学系II (PSII) の最大量子収率 (F_v/F_m) の測定を行う前には、暗順応を行う必要がある。暗順応時間は一般には30分必要であるが、短期間のストレスの影響を評価する際には、時間を短くする必要があるという考察もあり、さらに水稻以外の植物を対象とした先行研究間でも時間が様々であるので、水稻における O_3 の影響を最大限評価できる時間を模索した。その結果、暗順応時間が5分以下の場合、 O_3 無処理区でも値が回復せず、 O_3 の影響と他の要因の影響が判断できず、20分以上の場合では、軽度の O_3 ストレスの影響が回復してしまうことが明らかとなった。また、重度の O_3 ストレス区では、暗順応時間中でも被害が進行することが分かった。これらの結果から、暗順応時間を10分に設定することで、最大限 O_3 の影響を評価できると判断し、第3章以降の実験で採用した。

第3章では、光合成に及ぼす O_3 および CO_2 の影響を詳細に検討した。第1節では、ガス交換測定とクロロフィル蛍光測定を行い、光合成への影響を考察した。なお、本研究では、 O_3 処理は5時間の短期曝露として、濃度は0, 0.1 または $0.3\text{ cm}^3\text{ m}^{-3}$ の3処理区を設けた。測定時期は、曝露前、曝露直後、1日後および3日後とした。ガス交換測定により、曝露直後に P_N および気孔コンダクタンス (g_s) が O_3 により濃度依存的に低下し、その後回復

に転じるが、高濃度の O_3 処理区では曝露 3 日後でも標準区より明らかに低い値のままであった。また、クロロフィル蛍光の測定により、PSII の量子収率も P_N と同様に、 O_3 により低下し、高 CO_2 が阻害を軽減した。しかしながら、 O_3 による阻害は葉位による差異が明らかで、出穂期の止葉では、栄養成長期の第 8 葉よりも P_N の阻害が軽微で、 F_v/F_m は影響を受けなかった。その原因として、葉の傾斜角度と厚みの差異が推察された。葉の傾斜角度は葉の受光量を決定する重要な因子であり、孤立個体においては、水平な葉ほど受光量は多くなる。水稻では、上位葉ほど葉が直立するため、止葉では受光量が下位葉よりも少ない。また、葉の厚みは明らかに上位葉の方が厚いため、抗酸化物質などの防御物質が単位葉面積当たりで多くなると想定される。実際に、葉の抗酸化物質含量は止葉の方が多かった。この仮説を立証するために、第 2 節および 3 節において、さらに検討を行った。第 2 節では、止葉に重りをつけて、葉を水平にしたときの O_3 阻害を調べた。その結果、水平葉では、葉の受光量が増加し、光合成の O_3 阻害も悪化した。第 3 節では、主要な抗酸化物質であるアスコルビン酸添加処理が O_3 阻害を軽減するか否かを検討した。その結果、アスコルビン酸処理を行うと、葉内のアスコルビン酸含量が増加し、光合成の O_3 阻害も軽減することが明らかとなった。以上より、葉の受光量および抗酸化物質含量の差異が O_3 阻害を決定する重要な因子であると結論した。

先行研究では、 O_3 および CO_2 を共に、長期あるいは短期間曝露してきたが、将来の圃場条件下で最も起こる可能性の高い環境は、高 CO_2 条件下での高濃度 O_3 の急性的な発生である。そこで、第 4 節では、高 CO_2 条件下で生育した水稻に O_3 を曝露した時の光合成の O_3 阻害を検討した。その結果、第 1 節の結果と同様、 O_3 により光合成が阻害され、高 CO_2 によりこの阻害が軽減された。長期 CO_2 処理は g_s の順化を引き起こしているの、気孔を介した O_3 流入量が短期 CO_2 処理の場合よりも抑制され、より阻害が軽減すると期待したが、そのような現象は見られなかった。また、新鮮重当たりのアスコルビン酸含量が高 CO_2 でわずかに減少したことから、抗酸化代謝などの O_3 阻害に関係する代謝が将来の高 CO_2 環境下で変化する可能性が示唆された。

第 4 章では、光合成と関係が深い窒素代謝に着目して実験を行った。窒素 (N) は植物にとって重要な養分であり、光合成速度を決定する因子でもある。本章では、窒素代謝の初期過程である硝酸還元を触媒する硝酸還元酵素 (NR) および亜硝酸還元酵素 (NiR) を対象とした。

その結果、PSII の量子収率と共に、NiR 活性が O_3 により阻害されることを明らかにした。NiR は PSII から供給される還元力を利用するので、PSII が O_3 阻害を受けることにより、NiR がエネルギー不足に陥ったと考えられた。このように、 O_3 による PSII の損傷は他の代謝にも影響を及ぼし、光合成のみならず、C/N 比など作物の生育にとり重要な他の因子にも影響を及ぼすかも知れない。

第 5 章では、光合成の O_3 阻害と植物ホルモンの関係について検討した。既にモデル植物で O_3 と関係が深いとされているジャスモン酸 (JA)、サリチル酸 (SA) およびエチレンを対象とした。すべての実験において、植物ホルモンを投与した際の影響評価と内生量の定量を行い、総合的にその役割を考察した。第 1 節では、ジャスモン酸メチル (MeJA) 処理が PSII の O_3 阻害を軽減し、 P_N の回復も促進することを明らかにした。MeJA 処理により、アスコルビン酸含量が増加し、気孔閉鎖が起こったことから、MeJA による抗酸化代謝の活性化と気孔の開鎖により O_3 阻害が軽減されたと考察した。また、MeJA 含量は O_3 により曝露直後に大きく増加し、JA 含量は曝露 1 日後以降から徐々に増加した。第 2 節では、SA 処理が、わずかに光合成の O_3 阻害を軽減したが、MeJA 処理ほど効果的ではなかった。これは、SA 処理が気孔の開閉に影響を及ぼさなかったためと考察した。また、SA 含量は曝露 1 日後以降に O_3 曝露により増加した。第 3 節では、エチレンの作用阻害剤である STS 処理が O_3 による可視被害と光合成の O_3 阻害を軽減することを明らかにした。アスコルビン酸含量は STS 処理によりわずかに影響を受けたが、気孔の開閉および抗酸化代謝系への影響は少ないことから、エチレンは O_3 阻害を発生させる直接的なシグナル伝達物質であると考えた。また、エチレン生成は O_3 曝露により直後に大きく増加し、1 日後以降では増加は見られなかった。以上の結果から、モデル植物での研究と同様に、水稻でも JA と SA が O_3 阻害を抑制する方向に、エチレンが促進する方向に働く因子であると結論付けた。しかしながら、SA の役割はモデル植物と比較すると小さかった。したがって、植物によりこれらの応答の程度が異なることに注意すべきである。また、これらの植物ホルモン含量は高 CO_2 によりわずかに影響を受けるので、将来の高 CO_2 環境下では、これらの植物ホルモンの役割や相互作用は変化するかも知れない。

第 6 章では、すべての研究結果をまとめ、水稻における O_3 阻害および応答のメカニズムを図式化し、環境変動への対応策と今後の課題について考察した。今後、 O_3 濃

度が増加した場合の対処法としては、育種と栽培面からの取り組みが考えられる。育種の面では、 O_3 ストレスに対して防御的な働きを有する抗酸化物質、JA および SA などを過剰に生産する品種や変異体の育成が効果的であろう。また、栽培の面からは、 O_3 ストレスが生じる前に、防御物質を外生投与することで効果が得られると期待できる。しかしながら、非ストレス条件下での JA の発現は、JA が光合成抑制や老化促進を引き起こすことから、恒常的に発現量の多い品種や、時機を逸した外生投与は減収を招く恐れがある。それゆえ、著者は植物ホルモンではなく、シグナル伝達で最終的に合成される抗酸化物質などの直接的な防御物質が最も効果的に利用できると考えている。経済的な側面から、植物ホルモンより安価である。一方で、実際の農業の現場では、光合成や可視被害の改善のみならず、品質も維持されなければならない。このような側面は、モデル植物を対象とした生理的なメカニズムの解明を目指した研究では注目されないが、安定した食糧生産を目指すためには、収量、品質のことも考慮する必要がある。加えて、水田においては、光化学オキシダントの発生に加えて、バックグラウンドレベルでの O_3 濃度の上昇も起こる可能性があることから、慢性 O_3 曝露や急性と慢性 O_3 を組み合わせた際の影響も評価し、如何なる環境変動にも対応できる技術の確立が求められる。